

Ann Clin Microbiol Vol. 16, No. 1, March, 2013  
<http://dx.doi.org/10.5145/ACM.2013.16.1.19>  
 ISSN 2288-0585

# Comparison Cytomegalovirus Qualitative Assay Using Real-Time PCR and Conventional PCR

Seri Jeong<sup>1</sup>, Yoon Jung Kim<sup>1</sup>, Il Kwon Bae<sup>1</sup>, Moon Jung Kim<sup>2</sup>, Seok Hoon Jeong<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Laboratory Medicine and Research Institute of Bacterial Resistance, Yonsei University College of Medicine, Seoul, <sup>2</sup>Department of Biomedical Sciences, Graduate School of Public Health Science, Eulji University, Daejeon, Korea

**Background:** Cytomegalovirus (CMV) infection is a major cause of morbidity and mortality in immunocompromised patients. We compared the abilities of the recently developed Real-Q Cytomegalovirus Kit (Bio-sewoom Inc., Korea) and the previously used PANAmPCR CMV Detection Kit (Panagene Inc., Korea) to detect CMV.

**Methods:** We analyzed 300 samples (whole blood: 262, urine: 37, CSF: 1) submitted for qualitative CMV PCR testing during October 2011 at Yonsei University College of Medicine Severance Hospital. real-time PCR was performed with a Real-Q Cytomegalovirus Kit and conventional PCR was conducted with a PANAmPCR CMV Detection Kit.

**Results:** The positive rates of both real-time PCR and conventional PCR were 25.3% (76/300), and the kappa coefficient (K) was 0.96 (95% confidence interval (CI), 0.93-1.00). The concordance rate of the Real-Q Cytomegalovirus Kit and the PANAmPCR CMV Detection Kit was 98.7% (296/300), and four out

of 300 samples showed discordant results. If the concordant results of 296 samples and the four results confirmed by direct sequencing were assumed to be true, the sensitivity and specificity of the Real-Q Cytomegalovirus Kit were 97.4% (95% CI, 93.8-100.0%) and 99.1% (95% CI, 97.9-100.0%), respectively.

**Conclusion:** The recently developed Real-Q Cytomegalovirus Kit showed excellent sensitivity and specificity, and had a high concordance rate with the previously established PANAmPCR CMV Detection Kit, which uses conventional PCR. Furthermore, real-time PCR could decrease the test time, as the electrophoresis step required for conventional PCR is not required for real-time PCR. (*Ann Clin Microbiol* 2013; 16:19-24)

**Key Words:** Cytomegalovirus (CMV), Polymerase chain reaction (PCR), Real-time polymerase chain reaction

## 서 론

거대세포바이러스(cytomegalovirus, CMV) 감염은 고형장기 이식환자나 조혈모세포 이식환자 사망률의 중요한 원인이며, CMV의 면역기능 저하 효과로 인해 기회감염균에 의한 유행병을 증가시킬 수도 있다[1,2]. 최근 국내에서는 암환자와 이식환자들이 증가하는 추세이므로[3,4] CMV 감염을 조기에 간단히 진단할 수 있는 검사법이 필요한 상황이다.

CMV 진단 방법으로 혈청학적 항체검사법, 바이러스 배양법, 제자리부합법(in situ hybridization), 항원혈증검사법, 중합효소연쇄반응법(polymerase chain reaction, PCR) 등이 있다. 이중 비교적 간편한 혈청학적 항체검사법이 널리 이용되고 있으나 감염 후 1-2주가 지나야 CMV 특이항체가 검출되며, 면역기능 저하자의 경우에는 위음성 결과가 나타나므로 CMV 감염

조기 진단에 한계가 있다[2]. 바이러스 배양법은 특이도가 높아 확진 시 사용되나 민감도가 낮고 검사 시간이 오래 걸리는 단점이 있고[5] 제자리부합법은 민감도가 높지만 조직생검 검체에만 적용이 가능하다[6]. 항원혈증 검사법은 민감도도 높고 반정량이 가능하여 PCR 검사법 비교평가가 시 표준검사법으로 시행되어 왔으나[7,8] 즉각적인 검체 처리가 필요하고 제조회사마다 결과의 차이가 있으며 검사실 간 판정 기준이 표준화되어 있지 않다[9]. PCR을 이용한 CMV 정성검사가 항원혈증 검사법보다 더 민감하다는 보고가 있으나 잠복감염과 현증감염의 감별에 어려움이 있고 특이도나 양성 예측도가 낮다는 한계점이 있다[10]. 반면, 실시간 중합효소연쇄반응(real-time PCR)은 대수증식기(exponential phase)에서 분석이 이루어지므로 기존의 PCR 검사법에 비해 신속한 검사가 가능하다는 장점이 있다[11,12]. 따라서, 이 연구에서는 국내에서 개발된 real-time PCR을 이용한 Real-Q Cytomegalovirus Kit (Biosewoom Inc., Seoul, Korea)와 기존의 PCR 방법을 이용한 PANAmPCR CMV Detection Kit (Panagene Inc., Daejeon, Korea)를 비교, 평가하고자 하였다.

Received 30 July, 2012, Revised 2 November, 2012

Accepted 21 November, 2012

Correspondence: Seok Hoon Jeong, Department of Laboratory Medicine, Yonsei University College of Medicine, 146-92, Dogok-dong, Gangnam-gu, Seoul 135-720, Korea. (Tel) 82-2-2019-3532, (Fax) 82-2-2019-4822, (E-mail) kscpjsh@yuhs.ac

## 대상 및 방법

### 1. 대상

2011년 10월 1일부터 27일까지 세브란스병원에 CMV-PCR 검사가 의뢰되었던 300명의 환자 검체를 대상으로 하였다. 동일한 검체를 대상으로 PANAmPCR CMV Detection Kit와 동시에 Real-Q Cytomegalovirus Kit를 이용하여 정성 검사를 시행하였다.

### 2. 방법

**1) 실시간 중합효소연쇄반응:** 혈액 검체의 DNA 추출은 상품화된 QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany)를 이용하였다. 제조사 방침에 따라 citrate 또는 EDTA 항응고제가 들어 있는 4-6 mL 전혈에 dextran 2 mL로 적혈구를 침강시켜 백혈구 연층을 분리하였다. 이를 PBS에 재부유시켜 원심분리 후 상층액을 100% ethanol과 혼합한 후, 다시 원심분리하고 95% ethanol로 세척 및 실온에서의 건조 과정을 거쳐 DNA를 분리하였다. 소변, 뇌척수액 검체의 경우는 QIAamp MinElute Virus Spin Kit (Qiagen)를 사용하여 DNA를 분리하였다. Real-time PCR은 CMV 유전체 중 glycoprotein B (gpUL55)를 증폭하도록 만들어진 Real-Q Cytomegalovirus Kit를 이용하였다. PCR 반응 혼합물을 준비한 후 ABI PRISM 700 SDS (Applied Biosystems, Carlsbad, CA, USA)를 이용하여 50°C 2분, 95°C 10분, 95°C 20초/60°C 30초/72°C 30초를 45회 반복하는 조건으로 반응시켰다. CMV DNA에는 VIC 염색제를, 내부 대조물질(Internal control, IC)에는 FAM 염색제를 부착하여 각각의 형광 채널에서 신호를 검출하고 역치값은 0.1로 지정된 뒤 기준주기(Cycle threshold, Ct)를 확인하였다. 양성대조군은 CMV의 Ct값이 27±3 이하, IC의 Ct값은 40 cycle 이하임을 보았고, PCR 오염을 확인하기 위한 음성대조군의 경우에는 CMV는 신호가 나타나지 않고, IC는 신호가 나타남을 확인하였다. 검체 결과 해석은 CMV의 Ct값이 40 미만이고 IC의 Ct값이 40 이하인 경우는 양성, CMV의 Ct값이 40 이상이고 IC의 Ct값이 40 이하인 경우는 음성으로 판정하였다.

**2) 중합효소연쇄반응:** Real-time PCR에서 사용한 것과 동일한 방법으로 DNA를 추출한 뒤, CMV 유전체의 UL55 부분을 검출하도록 고안된 PANAmPCR CMV Detection Kit를 이용하여 PCR을 시행하였다. 15 µL의 반응 혼합액을 PCR tube에 분주한 후, 추출한 샘플 DNA와 양성 대조군, 음성 대조군을 각각 5 µL씩 첨가하였다. 이를 50°C 2분, 95°C 10분, 95°C 10초/61°C 25초/72°C 30초간 총 45회 반복한 후 72°C 5분의 조건으로 반응시켰다. 반응 산물을 ethidium bromide가 포함된 2.5% 한천에 5 µL씩 넣고 전기영동한 후 UV transilluminator에서 band를 확인하였다. 양성 검체는 80 bp (CMV)와 300 bp (IC) 크기의 산물을 모두에서 볼 수 있는 반면, 음성 검체에서는 300 bp

(IC) 크기의 산물만 관찰되었다.

**3) 염기서열분석법:** Agarose gel에 있는 DNA band를 잘라내어 QIAquick Gel Extraction Kit (Qiagen)로 용출시켰다. 약 50 ng의 DNA를 주형으로 삼아 kit 내의 amplification primer로 증폭하고 3730xl DNA Analyzer (Applied Biosystems) 장비를 이용하여 염기서열분석을 시행하였다. 불일치 검체에 대해서는 직접염기서열분석법으로 결과를 확인하였다. Real-Q Cytomegalovirus Kit 음성/ PANAmPCR CMV Detection Kit 양성인 2검체의 경우에는 PANAmPCR의 primer를 사용하여 분석하였고, 이와 함께 환자의 CMV 관련 임상 증상과 추가적인 검체, 영상, 조직 검사 결과를 토대로 하여 참값을 정하였다.

**4) 통계처리:** 환자군의 특성, 검사 간 일치율, 염기서열분석법을 기준으로 한 민감도, 특이도를 Microsoft사의 Excel (Microsoft corp., Redmond, WA, USA)을 이용하여 분석하였다. 두 검사 방법의 비교를 위해 Analyse-it Method Evaluation Edition version 2.26 software (Analyse-it Software Ltd., Leeds, UK)를 이용하여 kappa coefficients (K)를 구하고 McNemar 카이제곱 분석을 시행하였다. 유의수준이 0.05 미만이면 통계적으로 유의한 것으로 판정하였다.

## 결 과

### 1. 환자 및 검체 특성

총 300명의 환자 중 남자, 여자는 각각 168명, 132명이었고 평균연령은 50.0세(95% 신뢰구간, 30.6-69.4세)였다. 일반병동 환자가 87.7%로 중환자실 환자(12.3%)보다 많았으며 기저 질환은 혈액 질환이 175예(58.3%)로 가장 많았다. 주로 전혈 검체(262예, 87.3%)가 의뢰되었고 소변 검체의 경우는 2예를 제외한 모든 환자가 20세 미만이었다(Table 1).

### 2. 검사 방법 간의 결과 비교

Real-time PCR을 이용한 Real-Q Cytomegalovirus Kit와 일반 PCR 방법을 이용한 PANAmPCR CMV Detection Kit 모두 76 검체 (25.3%)에서 양성이었다. Real-Q Cytomegalovirus Kit 양성/ PANAmPCR CMV Detection Kit 음성은 2검체, Real-Q Cytomegalovirus Kit 음성/PANAmPCR CMV Detection Kit 양성도 2검체였고, 이에 따른 두 kit 간의 일치율은 98.7% (296/300), 불일치율은 1.3% (4/300)였다. Real-time PCR과 일반 PCR 간의 kappa coefficients (K)는 0.96 (95% 신뢰구간, 0.93-1.00)으로 높은 일치도를 보였으며 McNemar test 시에도 두 방법 간에 통계학적으로 유의한 차이가 없었다( $P=1.0000$ ) (Table 2). 불일치 결과를 보인 4검체의 항체검사 결과, 검사가 시행되지 않은 1검체를 제외한 3검체에서 CMV IgM 음성이 나왔다. Real-Q Cytomegalovirus Kit 양성/PANAmPCR CMV Detection Kit 음성인 2검체의 real-time PCR의 Ct값은 각각 39.87, 39.91로 경계치인

40에 가까웠고, Real-Q Cytomegalovirus Kit 음성/PANAm PCR CMV Detection Kit 양성인 2검체의 경우에는 real-time PCR의 Ct값을 구할 수 없었다. 불일치 검체에 대해서는 직접염기서열 검사법 및 임상 진단을 토대로 CMV 양성임을 확인하였다 (Table 3).

일치한 결과(296검체)와 염기서열검사 및 임상진단에서 확인한 결과(4검체)를 참값으로 할 때 Real-Q Cytomegalovirus Kit는 97.4% (95% 신뢰구간, 93.9-100.0%)의 민감도와 100.0% (95% 신뢰구간, 100.0-100.0%)의 특이도를 보였고 양성예측도와 음성예측도는 각각 100.0% (95% 신뢰구간, 100.0-100.0%), 99.1% (95% 신뢰구간, 97.0-100.0%)의 결과를 나타내었다(Table 2).

**Table 1.** Demographic characteristics of the patients

| Characteristics     | No. of patients | Percentage (%) |
|---------------------|-----------------|----------------|
| Sex                 |                 |                |
| Male                | 168             | 56.0           |
| Female              | 132             | 44.0           |
| Age (years)         |                 |                |
| Under 20            | 48              | 16.0           |
| 20-30               | 26              | 8.7            |
| 30-40               | 42              | 14.0           |
| 40-50               | 40              | 13.3           |
| 50-60               | 73              | 24.3           |
| 60 and over         | 71              | 23.7           |
| Ward                |                 |                |
| ICU                 | 37              | 12.3           |
| General             | 263             | 87.7           |
| Diagnosis           |                 |                |
| Hematologic disease | 175             | 58.3           |
| Solid cancer        | 13              | 4.3            |
| Renal disease       | 23              | 7.7            |
| Other*              | 89              | 29.7           |
| Specimen type       |                 |                |
| Whole blood         | 262             | 87.3           |
| Urine               | 37              | 12.3           |
| CSF                 | 1               | 0.3            |

\*Fever of unknown origin, pneumonia, hepatitis etc. were included. Abbreviations: ICU, intensive care unit; CSF, cerebrospinal fluid.

### 3. 검사 방법 간의 소요시간 비교

검사 과정은 DNA 추출, PCR 혼합물 준비, PCR 반응, 전기영동 및 분석으로 구성되어 있었다. 과정마다 소요된 시간을 12검체당 측정한 결과, PANAmPCR CMV Detection Kit는 270분이 필요한 반면, Real-Q Cytomegalovirus Kit는 200분으로 검사 소요시간이 더 적었다(Fig. 1).

## 고 찰

CMV는 기회감염 병원체로 건강인 감염 시 대부분 무증상의 잠복감염 형태를 보이나 면역저하환자에서는 심각한 질환을 일으킬 수 있다. 대부분 일차 감염 시 치명적인 증상이 나타나지만 면역억제 상태에서는 잠재된 바이러스의 재활성화나 재감염이 된 경우에도 심각한 증상을 초래할 수 있다[11,13]. 우리나라의 건강한 성인을 대상으로 시행한 CMV IgG 항체 양성률은 97-98%로[14,15] 이 연구 대상 환자의 대부분이 CMV 잠복감염인 상태이고 장기, 골수이식이나 항암치료를 받는 면역저하 상태이므로 CMV의 재활성 및 재감염의 위험도가 높을 것으로 예상된다. CMV 질환으로는 골수이식 시행 시의 CMV 폐렴, 후천성면역결핍증 환자에서의 CMV 망막염 등이 있다.

**Table 2.** Comparison of real-time PCR and conventional PCR by kappa agreement and McNemar test for detection of CMV infection

| Parameters              | Real-time PCR (n=300) |          |
|-------------------------|-----------------------|----------|
|                         | Positive              | Negative |
| Conventional PCR        |                       |          |
| Positive                | 74                    | 2        |
| Negative                | 2                     | 222      |
| Kappa agreement*        | 0.96 (0.93 to 1.00)   |          |
| P value of McNemar test | 1.0000                |          |
| Agreement (%)           | 98.7                  |          |

\*Result is expressed as the value of kappa statistic (95% confidence interval).

**Table 3.** Results of CMV antibodies on the discrepancy (n=4) between real-time PCR and conventional PCR

| Sample No. | Real-time | Ct of real-time | Conventional | CMV IgM    | CMV IgG    | Direct sequencing* | Diagnosis                   | CMV associated diagnosis*               |
|------------|-----------|-----------------|--------------|------------|------------|--------------------|-----------------------------|---|
| 1          | Negative  | - <sup>†</sup>  | Positive     | Negative   | Positive   | Positive           | Hepatocellular carcinoma    | Leukopenia, thrombocytopenia            |
| 2          | Positive  | 39.87           | Negative     | Negative   | Positive   | - <sup>‡</sup>     | Chronic myelocytic leukemia | Leukopenia, thrombocytopenia, enteritis |
| 3          | Negative  | - <sup>†</sup>  | Positive     | Negative   | Positive   | Positive           | Acute lymphocytic leukemia  | Leukopenia, thrombocytopenia, retinitis |
| 4          | Positive  | 39.91           | Negative     | Not tested | Not tested | - <sup>‡</sup>     | Hodgkin's disease           | Leukopenia, thrombocytopenia            |

\*The four discordant results were determined to be positive for CMV infection based on the results of direct sequencing and CMV associated clinical diagnosis; <sup>†</sup>The Cycle threshold (Ct) of real-time PCR could not be obtained; <sup>‡</sup>The results of direct sequencing were not determined definitely.

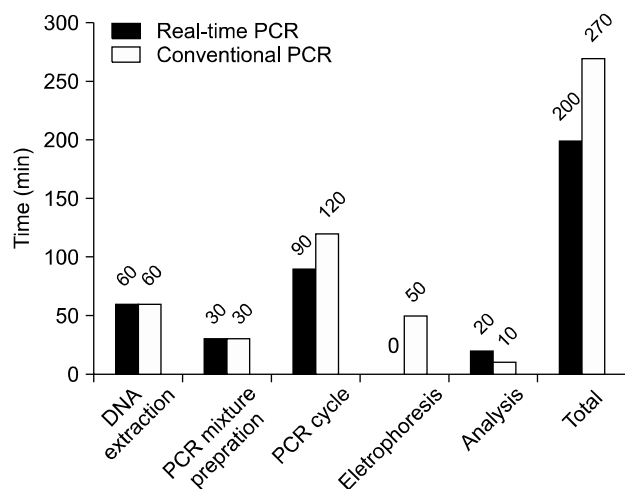


Fig. 1. Time for real-time PCR and conventional PCR per 12 samples.

이러한 CMV 질환은 생명을 위협할 수 있을 정도로 치명적이며 흔하게 보고 되어 있다[16-18]. CMV 감염의 진행을 막기 위해 항바이러스 치료제가 널리 쓰이고 있으나 효과를 거두기 위해서는 정확하고 신속한 검사를 통한 CMV 조기 진단이 필수적이다.

이 연구에서 시행한 CMV 일반 PCR 방법과 real-time PCR 방법은 각각 300검체 중 76검체(25.3%)에서 양성되었고 98.7%의 일치율을 보였다. 주로 면역이 저하되어 현증 감염의 위험도가 큰 환자가 많이 의뢰된 점과 예전보다 혈액 질환, 암으로 인한 이식 환자가 증가된 점이 Shin 등[19] (10%)이나 Choe 등[20] (14.3%)보다 높은 양성률이 보고된 원인으로 생각되었다. 또한, 두 방법 모두 PCR을 이용하였고 비슷한 유전체 부위(UL55)를 검출하도록 고안되었기에 높은 일치율을 보였을 것으로 생각한다. 이번 연구에 사용된 Real-Q Cytomegalovirus Kit는 97.4%의 민감도와 100.0%의 특이도를 보였고, 이는 다른 회사의 real-time PCR 제품을 이용한 Li 등[21] (민감도, 96.7%; 특이도, 92.0%), Boeckh 등[22] (민감도, 80.1%; 특이도, 93.0%)의 연구 결과보다 높은 수치였다. 일반 PCR 방법과 real-time PCR 방법 간의 결과가 불일치한 검체에 대해서는 염기서열분석과 환자의 임상진단을 통해 최종적으로 CMV 양성임을 확인하였다. 염기서열분석결과를 기준으로 하였을 때 real-time PCR 위음성 결과의 원인으로 혈중 바이러스 수치가 낮아서 검출하지 못한 경우, CMV 염기서열 변이, 항응고제로 사용한 heparin 및 검체 종류 차이[23,24] 등을 생각해 볼 수 있다. 추가적으로, real-time PCR의 Ct값 설정에 따른 민감도 차이와 항바이러스약을 투여한 환자 검체의 시간 경과에 따른 차이[25] 등도 불일치의 원인일 가능성이 있다.

불일치를 보인 4명의 환자 모두 고형암이나 백혈병 진단으로 항암치료나 이식을 받아 면역이 저하된 상태였고, 임상양상과 염기서열분석결과, 추적 검사를 종합하였을 때 CMV 감염인

것으로 판단되었다. 따라서, 적절한 Ct값 설정 후 real-time PCR검사를 시행하도록 하고 경계치와 근접한 경우 환자의 임상 상태를 보아 이에 대한 정밀검사가 필요할 것으로 생각되었다. 추가적으로, 임상 진단에 따른 Ct값의 차이에 대해 알아보았다. CMV 감염은 바이러스나 항원, 핵산이 검출되는 경우로, CMV 질환은 CMV 감염과 함께 1) 3일 이상 지속되는 발열, 2) 백혈구감소증( $<3,000/\mu\text{L}$ ), 3) 혈소판감소증( $<100,000/\mu\text{L}$ ), 4) 비전형 림프구증다증, 5) 간염, 6) 간질성 폐렴, 7) 망막염, 8) 대장염, 9) 신장염 중 2개 이상의 소견을 나타내는 증거가 있을 때로 정의하였다[19]. CMV 감염군( $n=28$ )의 Ct값(중앙값, 38.47; 95% 신뢰구간, 34.26-39.41)은 CMV 질환군( $n=48$ )의 Ct값(중앙값, 35.18; 95% 신뢰구간, 33.16-37.21)에 비해 높았다( $P=0.0277$ ). CMV 감염 진단에 있어 CMV DNA의 양과 임상 증상과의 관련성에 대하여는 아직 논란이 있으나 CMV DNA 수치가 높은 환자는 무증상이라 하더라도 잠재적인 CMV 질환의 위험군으로서 임상경과 관찰 및 치료가 필요할 것으로 주장한 보고가 있어[26,27] 아직 CMV 질환이 진단되지 않은 환자에 대해서도 지속적인 CMV PCR 검사가 필요할 것으로 판단되었다.

기존의 PCR 방법과 real-time PCR 과정에 소요된 시간을 비교한 결과 DNA 추출 및 반응혼합물 준비시간은 공통적이었으나 분석 단계에서는 real-time PCR이 좀 더 시간이 소요되었고 PCR 반응 단계에서는 일반 PCR이 더 긴 시간을 필요로 하였다. 특히, 일반 PCR의 경우 전기영동 단계가 반드시 필요하여 전체적으로는 70분 정도의 시간 소모가 있었다. 기존의 PCR과는 달리 real-time PCR은 전반적인 시간 소모가 적고 PCR 반응 초기에서도 결과를 얻을 수 있어 신속, 정확한 방법으로 판단되었다[28].

결론적으로 real-time PCR에 의한 Real-Q Cytomegalovirus Kit는 CMV 조기 진단, 치료 및 향후 증가된 많은 검체를 처리할 수 있는 자동화에도 유리할 것으로 생각한다. 또한, PANAmPCR CMV Detection Kit와도 높은 일치율을 보여 기존의 PCR 검사를 대체할 수 있는 새로운 검사법으로 자리잡을 가능성이 크다.

## 감사의 글

본 연구는 (주) 바이오세움 연구비 지원에 의하여 이루어진 것임.

## 참 고 문 헌

1. Paya CV. Prevention of cytomegalovirus disease in recipients of solid-organ transplants. Clin Infect Dis 2001;32:596-603.
2. van Son WJ and The TH. Cytomegalovirus infection after organ transplantation: an update with special emphasis on renal transplantation. Transpl Int 1989;2:147-64.
3. Jung KW, Park S, Kong HJ, Won YJ, Boo YK, Shin HR, et al. Cancer statistics in Korea: incidence, mortality and survival in 2006-2007. J Korean Med Sci 2010;25:1113-21.

4. Cho WH, Kim SI, Kim MS, Ahn C, Bang KT, Jeon KO, et al. A proposal to activate organ donation: report of organ allocation study group. *J Korean Soc Transplant* 2009;23:8-14.
5. Lautenschlager I, Suni J, Ahonen J, Grönhagen-Riska C, Ruutu P, Ruutu T, et al. Detection of cytomegalovirus by the early-antigen immunofluorescence test versus conventional tissue culture. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1989;8:610-3.
6. Sheehan MM, Coker R, Coleman DV. Detection of cytomegalovirus (CMV) in HIV+ patients: comparison of cytomorphology, immunocytochemistry and in situ hybridization. *Cytopathology* 1998;9: 29-37.
7. Boeckh M and Boivin G. Quantitation of cytomegalovirus: methodologic aspects and clinical applications. *Clin Microbiol Rev* 1998;11:533-54.
8. Lee YW, Nam MH, Lee JH, Lee NY. Comparison of polymerase chain reaction method and CMV antigenemia assay for diagnosis of cytomegalovirus infection in transplanted patients. *Korean J Clin Microbiol* 1999;2:177-81.
9. Guiver M, Fox AJ, Mutton K, Mogulkoc N, Egan J. Evaluation of CMV viral load using TaqMan CMV quantitative PCR and comparison with CMV antigenemia in heart and lung transplant recipients. *Transplantation* 2001;71:1609-15.
10. Delgado R, Lumbreras C, Alba C, Pedraza MA, Otero JR, Gómez R, et al. Low predictive value of polymerase chain reaction for diagnosis of cytomegalovirus disease in liver transplant recipients. *J Clin Microbiol* 1992;30:1876-8.
11. Kearns AM, Guiver M, James V, King J. Development and evaluation of a real-time quantitative PCR for the detection of human cytomegalovirus. *J Virol Methods* 2001;95:121-31.
12. Alice T, Enrietto M, Pittaluga F, Varetto S, Franchello A, Marchiaro G, et al. Quantitation of cytomegalovirus DNA by real-time polymerase chain reaction in peripheral blood specimens of patients with solid organ transplants: comparison with end-point PCR and pp65 antigen test. *J Med Virol* 2006;78:915-22.
13. Lisboa LF, Preiksaitis JK, Humar A, Kumar D. Clinical utility of molecular surveillance for cytomegalovirus after antiviral prophylaxis in high-risk solid organ transplant recipients. *Transplantation* 2011;92:1063-8.
14. Seo S, Cho Y, Park J. Serologic screening of pregnant Korean women for primary human cytomegalovirus infection using IgG avidity test. *Korean J Lab Med* 2009;29:557-62.
15. Kim YK and Kim DW. Seroepidemiology of human cytomegalovirus in healthy adults measured by means of the anticomplement immunofluorescence technique. *Korean J Infect Dis* 1992;24:87-92.
16. Tun N, London N, Kyaw MK, Smithuis F, Ford N, Margolis T, et al. CMV retinitis screening and treatment in a resource-poor setting: three-year experience from a primary care HIV/AIDS programme in Myanmar. *J Int AIDS Soc* 2011;14:41.
17. Schmidt U, Metz KA, Soukou C, Quabeck K. The association of pulmonary CMV infection with interstitial pneumonia after bone marrow transplantation. Histopathological and immunohistochemical findings in 104 autopsies. *Zentralbl Pathol* 1993;139:225-30.
18. Engelhard D, Naparstek E, Or R, Nagler A, Jacobs J, Shahar MB, et al. Ganciclovir for the treatment of disseminated CMV disease without pneumonia in allogeneic T-lymphocyte depleted bone marrow transplantation. *Leuk Lymphoma* 1993;10:143-6.
19. Shin HJ, Kim HK, Kim HS. The usefulness of PCR and early antigen immunostaining as a rapid identification method of cytomegalovirus infection. *Korean J Clin Pathol* 1998;18:452-7.
20. Choe WH, Kang JO, Choi TY, Ahn Y. Detection of cytomegalovirus by Dual-PCR. *Korean J Clin Microbiol* 2006;9:96-101.
21. Li H, Dummer JS, Estes WR, Meng S, Wright PF, Tang YW. Measurement of human cytomegalovirus loads by quantitative real-time PCR for monitoring clinical intervention in transplant recipients. *J Clin Microbiol* 2003;41:187-91.
22. Boeckh M, Huang M, Ferrenberg J, Stevens-Ayers T, Stensland L, Nichols WG, et al. Optimization of quantitative detection of cytomegalovirus DNA in plasma by real-time PCR. *J Clin Microbiol* 2004;42:1142-8.
23. Miller MJ, Bovey S, Pado K, Bruckner DA, Wagar EA. Application of PCR to multiple specimen types for diagnosis of cytomegalovirus infection: comparison with cell culture and shell vial assay. *J Clin Microbiol* 1994;32:5-10.
24. Beutler E, Gelbart T, Kuhl W. Interference of heparin with the polymerase chain reaction. *Biotechniques* 1990;9:166.
25. Gerna G, Zipeto D, Parea M, Revello MG, Silini E, Percivalle E, et al. Monitoring of human cytomegalovirus infections and ganciclovir treatment in heart transplant recipients by determination of viremia, antigenemia, and DNAemia. *J Infect Dis* 1991;164:488-98.
26. Drouet E, Colimon R, Michelon S, Fourcade N, Niveleau A, Ducerf C, et al. Monitoring levels of human cytomegalovirus DNA in blood after liver transplantation. *J Clin Microbiol* 1995;33:389-94.
27. Zipeto D, Morris S, Hong C, Dowling A, Wolitz R, Merigan TC, et al. Human cytomegalovirus (CMV) DNA in plasma reflects quantity of CMV DNA present in leukocytes. *J Clin Microbiol* 1995;33:2607-11.
28. Garrigue I, Boucher S, Couzi L, Caumont A, Dromer C, Neau-Cransac M, et al. Whole blood real-time quantitative PCR for cytomegalovirus infection follow-up in transplant recipients. *J Clin Virol* 2006;36:72-5.

=국문초록=

## Real-Time PCR과 일반 PCR을 이용한 Cytomegalovirus 정성검사의 비교 평가

<sup>1</sup>연세대학교 의과대학 진단검사의학교실, 세균내성연구소, <sup>2</sup>을지대학교 보건대학원 의과학교실

정세리<sup>1</sup>, 김윤정<sup>1</sup>, 배일권<sup>1</sup>, 김문정<sup>2</sup>, 정석훈<sup>1</sup>

**배경:** Cytomegalovirus (CMV) 감염은 면역력이 저하되어 있는 환자의 이환과 사망의 중요한 원인이다. 이 연구에서는 CMV 검출을 위해 최근에 개발된 Real-Q Cytomegalovirus Kit (Biosewom Inc., Korea)와 기존 제품인 PANAmPCR CMV Detection Kit (Panagene Inc., Korea)를 비교 평가하였다.

**방법:** 세브란스 병원에 2011년 10월에 의뢰된 CMV 정성 PCR 검사 300검체(전혈 검체: 262개, 소변 검체: 37개, 뇌척수액 검체: 1개)를 대상으로 분석하였다. Real-time PCR은 Real-Q Cytomegalovirus Kit를 이용하였고 일반 PCR은 PANAmPCR CMV Detection Kit를 이용하여 CMV의 검출 부위를 증폭 시킨 후 결과를 해석하였다. 두 방법 간의 차이를 비교하고 불일치 결과를 보이는 검체는 염기서열검사를 시행하였다.

**결과:** Real-time PCR과 일반 PCR 모두 양성률은 25.3% (76/300)였고 두 방법간의 kappa coefficients (K)는 0.96 (95% 신뢰구간, 0.93-1.00)이었다. Real-Q Cytomegalovirus Kit와 PANAmPCR CMV Detection Kit 간의 일치율은 98.7% (296/300)였고 이 중, 4개의 검체에서 불일치한 결과가 나타났다. 두 방법 간의 동일한 결과를 보인 296 검체와 염기서열검사 및 환자의 임상증상을 토대로 판단한 4 검체의 결과를 참값으로 할 때, 새로이 평가하고자 하는 Real-Q Cytomegalovirus Kit는 97.4% (95% 신뢰구간, 93.9-100.0%)의 민감도와 100.0% (95% 신뢰구간, 100.0-100.0%)의 특이도, 100.0% (95% 신뢰구간, 100.0-100.0%)의 양성예측도, 99.1% (95% 신뢰구간, 97.0-100.0%)의 음성예측도를 보였다.

**결론:** 최근 개발된 Real-Q Cytomegalovirus Kit는 우수한 민감도와 특이도를 보였고, 기존의 일반 PCR 방법과도 높은 일치도를 보였다. 또한, real-time PCR 방법은 일반 PCR 방법의 전기영동 단계가 필요하지 않아 검사 소요 시간을 단축시킬 수 있다. [Ann Clin Microbiol 2013;16:19-24]

교신저자 : 정석훈, 135-720, 서울시 강남구 도곡동 146-92  
연세대학교 의과대학 진단검사의학교실  
Tel: 02-2019-3532, Fax: 02-2019-4822  
E-mail: kscpjsh@yuhs.ac